

(12) NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES
PATENTWESENS (PCT) VERÖFFENTLICHTE INTERNATIONALE ANMELDUNG

(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum
Internationales Büro



(43) Internationales Veröffentlichungsdatum
7. Dezember 2000 (07.12.2000)

PCT

(10) Internationale Veröffentlichungsnummer
WO 00/72955 A1

(51) Internationale Patentklassifikation: B01J 13/02,
A61K 9/50, 9/51, 9/16, B01F 5/06

(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/DE00/01677

(22) Internationales Anmeldedatum:
24. Mai 2000 (24.05.2000)

(25) Einreichungssprache: Deutsch

(26) Veröffentlichungssprache: Deutsch

(30) Angaben zur Priorität:
199 25 184.3 26. Mai 1999 (26.05.1999) DE

(71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme
von US): SCHERING AKTIENGESELLSCHAFT
[DE/DE]; Müllerstrasse 178, D-13353 Berlin (DE).

(72) Erfinder; und

(75) Erfinder/Anmelder (nur für US): HILDEBRAND, Ge-
sine [DE/DE]; Elberfelderstrasse 38, D-10555 Berlin (DE).
TACK, Johannes [DE/DE]; Tharsanderweg 28, D-13595
Berlin (DE). HARNISCH, Stephan [DE/DE]; Güntzel-
strasse 15, D-10717 Berlin (DE).

(81) Bestimmungsstaaten (national): AE, AG, AL, AM, AT,
AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, CA, CH, CN, CR, CU, CZ,
DK, DM, DZ, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU,
ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS,
LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NO,
NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR,
TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZW.

(84) Bestimmungsstaaten (regional): ARIPO-Patent (GH,
GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZW), eura-
sisches Patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM),
europäisches Patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI,
FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), OAPI-Patent
(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE,
SN, TD, TG).

Veröffentlicht:

- Mit internationalem Recherchenbericht.
- Vor Ablauf der für Änderungen der Ansprüche geltenden
Frist; Veröffentlichung wird wiederholt, falls Änderungen
eintreffen.

Zur Erklärung der Zweibuchstaben-Codes, und der anderen
Abkürzungen wird auf die Erklärungen ("Guidance Notes on
Codes and Abbreviations") am Anfang jeder regulären Ausgabe
der PCT-Gazette verwiesen.

WO 00/72955 A1

(54) Title: METHOD FOR PRODUCING MORPHOLOGICALLY UNIFORM MICRO AND NANOPARTICLES USING MI-
CROMIXERS

(54) Bezeichnung: VERFAHREN ZUR HERSTELLUNG VON MORPHOLOGISCH EINHEITLICHEN MIKRO- UND NANO-
PARTIKELN MITTELS EINES MIKROMISCHERS

(57) Abstract: The invention relates to a novel continuous method for producing morphologically uniform micro or nanoparticles
using a micromixer, to the use of this method for encapsulating active substances and to the particles produced with this method.

(57) Zusammenfassung: Die Erfindung betrifft ein neues kontinuierliches Verfahren zur Herstellung von morphologisch einheitli-
chen Mikro- oder Nanopartikeln mittels eines Mikromischers, die Verwendung dieses Verfahrens zur Verkapselung von Wirkstoffen,
sowie die mit dem Verfahren hergestellten Partikel.

VERFAHREN ZUR HERSTELLUNG VON MORPHOLOGISCH EINHEITLICHEN MIKRO- UND NANO-PARTIKELN MITTELS EINES MIKROMISCHERS

5

Die Erfindung betrifft ein neues kontinuierliches Verfahren zur Herstellung von morphologisch einheitlichen Mikro- und Nanopartikeln mittels Mikromischer, die Verkapselung von Wirkstoffen mit diesem Verfahren, sowie nach diesem Verfahren hergestellte Partikel.

10

Der Anmeldung liegen die folgenden Begriffsbestimmungen zugrunde:

Nanopartikel: Partikel mit einer Teilchengröße von 1 nm -1000 nm

15

Mikropartikel: Partikel mit einer Teilchengröße von 1 µm -1000 µm

Partikel: Oberbegriff für Mikro- und Nanopartikel unabhängig von der Verteilung der partikelbildenden Substanz im Partikel

20

Nanokapsel: Nanopartikel mit Kern-Schale-Struktur, dadurch gekennzeichnet, daß die partikelbildende Substanz als hüllenbildende Kapselwand vorliegt.

Mikrokapsel: Mikropartikel mit Kern-Schale-Struktur, dadurch gekennzeichnet, daß die partikelbildende Substanz als hüllenbildende Kapselwand vorliegt.

25

Kapseln: Oberbegriff für Mikro- und Nanokapseln

Partikelbildende Substanz: Wandbildner bzw. Einbettungsmaterial von Partikeln oder reiner Wirkstoff

30

Koazervation: Überführung eines gelösten Polymers in eine polymerreiche, noch lösungsmittelhaltige Phase mittels Desolvatation. Die einfache Koazervation kann durch Aussalzen, Temperaturänderung, pH-Änderung oder Lösungsmittelzusatz bewirkt werden. Bei einer komplexen Koazervation wird die Desolvatation durch entgegengesetzt geladene Ionen oder Polymere ausgelöst. Das Koazervat als partikelbildende Substanz scheidet sich auf das zu verkapselnde Material ab

35

Mikroverkapselung: Verkapselung eines Wirkstoffes in ein Partikel.

Lösungsmittelentzug: Entfernung von organischen Lösungsmitteln durch Verdampfung und/oder Extraktion.

5

Innere Phase: I, disperse, dispergierte Phase.

Äußere Phase: A, Dispersionsmittel.

- 10 **Natürliche Substanzen:** Substanzen natürlichen Ursprungs, sowie naturidentische und naturanaloge Substanzen.

- Mikromischer:** Mischer mit einer Mischkammer mit ineinandergreifenden Mikrokanälen, in der mindestens zwei fluide Medien an mindestens einer
- 15 Grenzfläche in Form von Flüssigkeitslamellen kleiner 1000 µm so in Kontakt gebracht werden, daß sich Flüssigkeitslamellen bilden, die alternierend aus den eingesetzten Medien bestehen und beim Aufsteigen im Auslaßkanal in eine kohärente und eine nicht kohärente Phase übergehen.
- 20 **Statischer Mischer:** kontinuierlich betreibbarer Mischer ohne bewegliche Einbauten.

Die bekannten Verfahren zur Herstellung von Mikro - oder Nanopartikeln können wie folgt eingeteilt werden:

- 25 1. Phasentrennverfahren - Koazervation
- einfach
 - komplex
2. mechanisch-physikalische Verfahren
- Sprühverfahren
- 30 3. Zentrifugalverfahren
- hot-emulsion-Verfahren
3. Polymerisationsverfahren
- Emulsionspolymerisation (Polymerisation innerhalb disperser Phase)
 - Grenzflächenpolymerisation (Polymerisation an Grenzfläche disperse
- 35 Phase/Dispersionsmittel)

4. Verfahren über Polymerdispersionen

- Hitzedenaturierung
- Desolvatation
- Lösungsmittelverdampfung (solvent evaporation)

5

- Quervernetzung

Alle Verfahren werden diskontinuierlich betrieben und eignen sich zur Mikroverkapselung von Wirkstoffen in eine bioabbaubare synthetische Polymermatrix bzw. Copolymermatrix und/oder in natürliche Substanzen.

10

Aus der Literatur bekannte synthetische Polymere für diesen Zweck sind Polyamide, Polyanhydride, Polyester, Polyorthoester, Polyacetate, Polylactone, Polyorthocarbonate u. a.. Vor allem aber haben bisher Polylactid und Polylactid-co-glycolid-Polymere Anwendung gefunden.

15

Als natürliche Substanzen zur Mikroverkapselung eignen sich zum Beispiel Fette und Proteine wie Gelatine und Albumin, sowie Polysaccharide und deren Derivate wie z.B. Stärke und Cellulose und deren Derivate, Alginat und Chitosan.

20

So sind z.B. aus US 4.675.189 (Syntex Inc.), US 4.835.139 (Debiopharm S.A.) und EP 302 582 B1 (Southern Research Inst.) pharmazeutische Zusammensetzungen auf der Basis von wasserlöslichen Peptiden oder Proteinen bekannt, die mittels Koazervation hergestellt wurden.

25

Die Nachteile dieses Verfahrens bestehen neben der Verwendung toxikologisch problematischer Mittel wie Dichlormethan, Heptan und Silikonöl auch darin, daß die verschiedenen durchzuführenden Verfahrensschritte nur einen diskontinuierlichen Betrieb zulassen.

30

Ein in EP 0 315 875 (Hoechst AG) beschriebenes Verfahren zur Herstellung bioabbaubarer Mikropartikel von wasserlöslichen Peptiden und Proteinen basiert auf dem Sprühtrocknungsverfahren, bei dem eine wäßrige Peptid- oder Proteinlösung in einer organischen Polymerlösung emulgiert und diese Emulsion sprühtrocknet wird. Auch dieses Verfahren ist nur diskontinuierlich durchführbar.

35

Nach dem "Solvent - Evaporation - Verfahren" hergestellte Mikropartikel sind in zwei kanadischen Patentanmeldungen CA 2.100.925 (Rhone-Merieux) und CA 2.099.941 (Tanabe Seiyaku Co.) beschrieben.

- 5 Üblicherweise wird bei dieser Methode der Wirkstoff in einer organischen Polymerlösung gelöst, suspendiert oder direkt bzw. als wäßrige Lösung emulgiert. Nach Zugabe dieser Polymer/Wirkstoffdispersion zu einer zweiten wäßrigen Phase mit einer grenzflächenaktiven Substanz wird das Polymerlösungsmittel verdampft.
- 10 Diese Methode ist sehr variabel und es werden normalerweise O/W, aber auch W/O oder komplexe W/O/W-Emulsionen hergestellt (Müller/Hildebrand: Pharmazeutische Technologie: Moderne Arzneiformen, Wiss. Verlagsgesellschaft, 2..Aufl., S. 243-258, 1998).
- 15 Essentieller Nachteil dieser Verfahren ist auch hier, daß es sich um diskontinuierliche Verfahren handelt. Im Labormaßstab erfolgt die Produktion z.B. im Becherglas, bei industrieller Herstellung bleibt die Produktionsweise erhalten, da lediglich das Ansatzgefäß vergrößert wird.
- 20 Herstellparameter wie z.B. die Dispergierzeit sind nicht direkt vom Labor- auf den Techniksmaßstab übertragbar. Diese Unterschiede führen zu Schwierigkeiten beim Scaling-up.
- 25 Aufgrund eines großen Mischvolumens entstehen mit Großmischern während der Dispergierung im Medium stark unterschiedlich durchmischte Bereiche. Die Dispergierung ist inhomogen und es resultieren uneinheitliche Produkte.
- 30 In der EP 0 167 825 wird die Dispergierung z.B. mit hochtourigen Mischern wie Rotor-Stator-Systemen beschrieben. Nachteilig ist, daß uneinheitlich verteilte Leistungsdichten im Dispergiermedium auftreten und die Partikel dadurch uneinheitlich werden.
- 35 Die US-Patentschrift 5,188,837 beschreibt beispielsweise die Dispergierung durch Beschallung mittels Ultraschallstäben. Die Produkte sind aber oft mit Metall kontaminiert (z.B. mit Titan des Ultraschallstabes). Zusätzlich ist die Leistungsdichte sowohl um den Rührer als auch um den Kopf des

Ultraschallstabes inhomogen, was zu Polydispersität der Partikel führt (Weyhers, H, Dissertationsschrift, Freie Universität Berlin, 1995).

- 5 Eine weitere Möglichkeit besteht in der Dispergierung mittels Hochdruckhomogenisation. Es können zwar in der Regel einheitliche Partikel hergestellt werden, doch die unter hohen Drücken auftretende Erosion am Kavitationsspalt kontaminiert das Produkt mit Metallionen. Zusätzlich können die bei Hochdruckhomogenisatoren auftretenden Temperaturspitzen empfindliche Wirkstoffe zersetzen. Die hohe Scherbelastung aufgrund des hohen Druckes (100 - 2000
10 bar) kann die Zersetzung von Makromolekülen (z.B. Albumin) zur Folge haben.

- Eine Verbesserung der W/O/W-Technik wird in der Patentanmeldung WO 97/19676 beansprucht, indem beim Dispergierprozeß ein zusätzlicher Phaseninversionsprozeß induziert wird. Eine W/O Emulsion wird durch Rühren
15 hergestellt, wobei die W-Phase den Wirkstoff enthält. Bei weiterem Zusatz wirkstofffreier Wasserphase erfolgt eine Phaseninversion zum W/O/W System, das unter Rühren konventionell weiterverarbeitet wird. Da immer noch zwei Dispergierprozesse involviert sind, bleiben die oben beschriebenen Probleme bestehen. Hinzu kommt jedoch, daß der Phaseninversionsprozeß zusätzlich
20 noch kontrolliert werden muß.

- Weiterhin werden Verfahren beschrieben, bei denen die Partikelmatrix in flüssiger Form in einer äußeren nicht mischbaren Phase direkt verteilt wird. Beispiele sind die Herstellung fester Lipidnanopartikel durch Rotor-Stator-
25 Systeme, durch Ultraschallung oder durch Homogenisation (EP 0605497; Siekmann et al. Pharm. Pharmacol. Lett., 1 (1992) 123-126).

- Weiterhin werden Arzneiformen beschrieben, in denen die partikelbildende Substanz reiner Wirkstoff ist. Die Herstellung von Partikeln aus reinen
30 Wirkstoffen kann auch durch Hochdruckhomogenisation erfolgen (DE4440337) Generell gelten die oben beschriebenen Nachteile. Eine weitere Herstellmöglichkeit besteht in der Mahlung der Partikel (z.B. durch Perlmöhlen wie bei NanoCrystals). Das Produkt ist aber durch den Abrieb der Mahlkugeln belastet (Buchmann et al., 42nd Congress APV, 124, Mainz, Germany 1996).
35

- Eine Herstellungsmethode für "Mikrokapseln" mit sehr schmaler Partikelgrößenverteilung mittels poröser Glasmembranen wird von Muramatsu et al. (J. Microencapsulation 1994, 11(2), pp 171-178) beschrieben. Bei diesem Verfahren wird die disperse Phase durch die Poren einer Glasmembran in ein zirkulierendes Dispersionsmittel gedrückt.
- 5 Dieses Verfahren zeichnet sich dadurch aus, daß nahezu monodisperse kolloidale Systeme erzeugt werden können, jedoch beträgt der Gehalt an disperser Phase in der Suspension max. 1% (m/m) und es ist bislang nur die Herstellung von Mikropartikeln beschrieben worden. Insbesondere eine
- 10 kontinuierliche Herstellung von Mikrokapseln ist nicht möglich.

- Ein Ansatz zur kontinuierlichen Herstellung von Mikropartikeln ist die Verwendung einer handelsüblichen Rotor-Stator-Durchflußzelle wie z.B. von Janke und Kunkel (Ika Labortechnik, Staufen, Deutschland) oder Silverson (Silverson Machined Limited, Chesham, United Kingdom). Letztere wird z.B. in
- 15 der PCT-Anmeldung WO 98/35654 beschrieben. Die oben diskutierten Rotor-Stator-Probleme bleiben erhalten. Speziell für die aseptische Produktion ergeben sich zusätzlich Probleme bzgl. Keimfreiheit, da die bei diesen Rotoren erforderlichen Dichtungen anfällig für Keimbesatz sind.

- 20 Ein weiterer Ansatz zur kontinuierlichen Herstellung von "Mikrokugeln" ist in DE19908171 und EP 0 963 787 beschrieben, wobei eine disperse Phase durch "Mikrokanäle" nicht genannter Größe in eine kontinuierliche Phase gepreßt wird. Nachteilig bei diesem Verfahren ist das geringe Durchsatzvolumen, das, laut
- 25 Kawakatsu et al. (J Chem Eng Jpn, 32(2), pp 241-44 (1999)), gewöhnlich bei 14 µl/min (!) disperser Phase liegt und somit für eine effiziente Anwendung in einem Produktionsprozeß nicht geeignet ist.

- Die Schwierigkeit der Realisierung eines geeigneten großtechnischen
- 30 Verfahrens zur Herstellung von Nanopartikeln wird auch dadurch belegt, daß bisher trotz mehr als 30 Jahren intensiver Forschung die Arzneiform Nanopartikel auf dem Markt nicht existiert. Neben technischen Problemen (Realisierung eines kontinuierlichen Prozesses, Kosten des Prozesses) kommt noch die oft fehlende Qualifizierungsfähigkeit der Anlagen dazu.

35

Zusammenfassend ergeben sich folgende Nachteile des Standes der Technik:

1. diskontinuierliche Produktionstechnik
- 5 2. Unterschiede in Produktionsbedingungen von Labor- und Technikumsmaßstab, dadurch Schwierigkeiten beim Scaling-up
3. inhomogene Mischbedingungen im Großansatz
4. uneinheitliche Produkte
5. Kontrollierbarkeit des Prozesses
- 10 6. Produktbelastung durch Produktionsprozeß (Kontamination)
7. Wirkstoffzersetzung
8. Kosten des Prozesses
9. Sehr geringe Menge Produkt pro Zeiteinheit
10. Qualifizierungs- und Validierungsfähigkeit des Prozesses bzw. der Anlage

15

Aufgabe der Erfindung ist es, ein kontinuierliches Verfahren zur Herstellung morphologisch einheitlicher, nicht agglomerierender Mikro- und Nanopartikel ohne Verwendung von organischen Lösungsmitteln oder unter Verwendung von toxikologisch unbedenklichen Lösungsmitteln zu erhalten, das zur

- 20 Mikroverkapselung von Wirkstoffen geeignet ist und das eine problemlose Überführung von einem Labor- auf einen Produktionsmaßstab ("Scaling-up") zuläßt.

Weiterhin sollten die Herstellbedingungen keine Produktbelastung und Wirkstoffzersetzung zur Folge haben.

25

Die Aufgabe der Erfindung wird überraschend einfach mittels eines Mikromischers gelöst. Die erfindungsgemäß verwendeten Mikromischer basieren dabei auf einem einfachen, aber vielseitigen Multilamellar-Prinzip. Die Flüssigkeiten werden durch eine Lamellenschicht gepreßt, wobei sich die

30 Schichtdicke der austretenden Flüssigkeit im Mikrometerbereich befindet.

Das zentrale Element eines solchen Mikromischers ist eine Mischkammer mit einer ineinandergreifenden Mikrokanalanordnung.

Beispiele für die erfindungsgemäß verwendeten Mikromischer sind:

- Mikromischer, Institut für Mikrotechnik Mainz GmbH, Mainz, Deutschland, (Fig. 1: Mischerarray-Mischkammer (oben) mit Einlaß für die äußere und innere Phase, vergrößerter Ausschnitt aus dem Mischerarray (unten))
 - 5 • Mikromischer, Siemens, Deutschland (Fig. 2)
 - Mikrotube Mischer, Mesa Research Institute, Niederlande (Fig. 3: koaxiale Zuführung der Innen- und Außenphase)
 - Mikromischer, Forschungszentrum Karlsruhe, Deutschland (Fig. 4)
- 10 Die Wände der Mikrokanäle können unterschiedlich ausgeformt sein. Beispielsweise können die Wände gerade, zickzackförmig oder wellenförmig sein (Fig. 5: Beispiele für verschiedene Kanalformen in Mikromischern).

Die Mischkammer kann beispielsweise mittels einer Kombination aus

- 15 Lithographie, Galvanoformung und Abformung (LIGA) hergestellt werden. Die Mikrokanalweite ist variabel und liegt zwischen 1-1000 μm , bevorzugt zwischen 2 und 500 μm und besonders bevorzugt zwischen 5 und 100 μm .

- Die zu mischenden Flüssigkeiten werden drucklos oder bei Flüssigkeitsdrücken
- 20 bis zu ca. 30 bar über Einlaßbohrungen dem Multikanalsystem zugeführt. Dies kann z. B. im Gegenfluß, Gleichfluß oder auch koaxial erfolgen. Dabei kommt es zur periodischen Überlappung der Flüssigkeitslamellen. Das Mischprodukt wird dabei nicht über die gesamte Oberfläche der Mischkammer abgezogen, sondern senkrecht oder parallel zur Flußrichtung über einen Auslaßkanal, der
- 25 die völlige Durchdringung innerhalb einer definierten Kontaktzone erzwingt.

Mit diesem Mikromischern lassen sich überraschenderweise kontinuierlich Mikropartikel herstellen. Zusätzlich zeichnen sich die mit dem Verfahren

- 30 Partikelgröße aus. gewonnenen Partikel überraschenderweise durch eine einheitliche

In der vorliegenden Erfindung wird durch den Einsatz von Mikromischern der Mischraum vom Maßstab von mehreren 100 Litern (z.B. Beco-Mix Mischer) auf ein Volumen von maximal wenigen cm^3 , in der Regel unter 1 cm^3 , mit einer

35 Grundfläche von in der Regel weniger als 3 cm^2 reduziert. Es resultiert eine niedrige Leistungsdichte und die Produktbelastung wird minimiert.

- Bei üblichen Flüssigkeitsdrücken von 1-2 bar können Durchflußvolumina von 1-1,5 L pro Stunde erreicht werden. Es können aber auch Drücke bis zu ca. 30 bar zum Pumpen der Flüssigkeiten durch die Mikrokänale des Mischers eingesetzt werden, bei geeigneter Konstruktion der Mischer auch höhere
- 5 Drücke. Somit können die Durchflußvolumina entsprechend erhöht werden, daß heißt pro Stunde können mit einem Mischer weit mehr als 10 L Produkt erzeugt werden.

- 10 Durch Variation der Mikrokanalbreite und der Auslaßkanalbreite kann die Mischeinheit auf viele verschiedene Herstellparameter wie Flußrate, Druck und Flüssigkeitseigenschaften wie Viskosität angepaßt werden. Damit können Partikelgröße und -verteilung der hergestellten Mikropartikel in weiten Grenzen beeinflusst und kontrolliert werden.

- 15 Vorteil der Erfindung ist, daß ein Scaling-up ohne Veränderung der Herstellbedingungen erfolgen kann, das heißt die Produktqualität bleibt unverändert.

- Durch einen parallelen Einsatz von Mikromischern läßt sich der Volumenstrom und damit der Durchsatz auf einfache Weise erhöhen. Alternativ können auch
- 20 mehrere vorgefertigte Mischer-Arrays (bestehend aus z.B. 10 Einzelmischer) verwendet werden.

Ein Scaling-up vom Labor- auf einen Produktionsmaßstab läßt sich somit einfach durch die Erhöhung der Mikromischeranzahl erreichen (Numbering-up).

- 25 Die Zufuhr der Phasen erfolgt jeweils aus einem gemeinsamen Vorratsbehälter für sämtliche Mischer.

- Die Durchmesser der Zufuhrleitungen sind so geregelt, daß bei jedem Mischer identische Druckverhältnisse und Strömungsgeschwindigkeiten herrschen. Selbst bei einem niedrigen Druck von 1-2 bar ergeben sich in einem Mischer-
- 30 Array ca. 5 L Produkt pro Stunde, das heißt bereits bei Kombination von nur 10 Arrays entsteht ein Durchsatz von 50 L Partikeldispersion pro Stunde.

- Die Erfindung eignet sich hervorragend zur aseptischen Produktion von Partikeln. Es können Mikromischer aus Metall eingesetzt werden (z.B. Stahl,
- 35 Silber), die autoklaviert und sogar mit Hitze sterilisiert werden können. Die zugeführten Phasen können problemlos steril filtriert werden. Selbst bei geschmolzenen Lipiden ist Sterilfiltration unter Druck problemlos möglich. Bei

der aseptischen Produktion werden die Förderpumpen vor die Sterilfilter geschaltet. Produktion im Mischer erfolgt dann unter aseptischen Bedingungen im Laminar-Air-Flow. Speziell der Einsatz von Silber-Mikromischem ist hier empfehlenswert, da zusätzlich noch der oligodynamische Effekt (List:

- 5 Arzneiformenlehre, Wiss. Verlagsgesellschaft, 3.Aufl., S. 445, 1982) zum Tragen kommt.

Es sind die meisten zur Zeit noch diskontinuierlich betriebenen Verfahren auch mit einem Mikromischer auf den kontinuierlichen Betrieb umstellbar.

10

Die Mikropartikelbildung kann dabei direkt in der Kontaktzone oder zeitlich verzögert auftreten. Die Mikro- bzw. Nanopartikelsuspension wird über den Auslaß abgezogen und kann gegebenenfalls weiter aufgearbeitet werden.

- 15 Die Verkapselung eines Wirkstoffes kann je nach dessen Löslichkeit in einfacher Weise erfolgen.

Der Wirkstoff wird einfach, direkt oder gelöst in einem geeigneten Medium, in der partikelbildenden flüssigen Phase gelöst, suspendiert oder emulgiert.

- 20 Ist es erforderlich, den Wirkstoff oder eine Wirkstofflösung zu emulgieren, kann dies zweckmäßigerweise in einem vorgeschalteten Mischer, vorzugsweise Mikromischer oder durch eine zusätzliche Einlaßbohrung bewerkstelligt werden.

- 25 Ist die Herstellung einer organischen Lösung der partikelbildenden Substanz nicht vermeidbar, kann es erforderlich werden, die gewonnene Mikropartikeldispersion nachzuprozessieren.

Im einfachsten Fall läßt sich das Restlösungsmittel mittels einer cross-flow-Filtration oder eines Dünnschichtverdampfers (z.B. Sambay) im kontinuierlichen Betrieb entfernen.

- 30 Dünnschichtverdampfung und cross-flow-Filtration eignen sich zudem zur Entfernung von unverkapseltem Wirkstoff und/oder des/der Tenseide.

Über die Einlaßbohrungen werden dem Mikromischer die partikelbildende flüssige Phase und das Dispersionsmedium zugeführt.

35

Die partikelbildende flüssige Phase kann sein:

1. die wäßrige Lösung einer partikelbildenden Substanz (z.B. Gelatinelösung, Wirkstofflösung)
- 5 2. eine organische Lösung einer partikelbildenden Substanz (z.B. PLGA in Ethylacetat, Wirkstofflösung, Wirkstoffsuspension)
3. eine geschmolzene (z.B. Fett, Wirkstoff, Polymer) partikelbildende Substanz

- Der partikelbildenden flüssigen Phase können ggf. Tenside, Viskositätserhöher, Lösungsmittel oder Stabilisatoren zugesetzt werden.
- 10

Das Dispersionsmedium kann sein:

1. Wasser oder eine wäßrige Lösung
2. eine hydrophile Flüssigkeit (z.B. Glycerol)
- 15 3. eine organische Lösung
4. ölige Flüssigkeit (z.B. mittelkettige Triglyceride, Rizinusöl, Erdnußöl)
5. ein- oder mehrphasige Mischungen aus den Medien 1 bis 4

- Dem Dispersionsmittel können die Koazervation auslösende oder löslichkeitsvermindernde Substanzen, Tenside, Viskositätserhöher und/oder Lösungsmittel zugesetzt werden.
- 20

- Die Mikropartikel- oder Nanopartikelbildung erfolgt je nach partikelbildender flüssiger Phase durch Erstarrung, Verfestigung durch Lösungsmittelentzug und/oder Koazervation.
- 25

Im folgenden werden die verschiedenen möglichen Verfahrensvarianten näher beschrieben:

- 30 Verfahrensvariante I:

- Die partikelbildende Substanz (z.B. synthetisches Polymer, natürliche Substanz, Wirkstoff) wird in einer organischen Phase gelöst und diese dann als innere Phase (I) mit einer ihr nicht mischbaren äußeren Phase (A) mittels Mikromischer dispergiert. Zur Stabilisierung der erhaltenen Dispersion können den Phasen Tenside, Viskositätserhöher, Lösungsmittel oder andere Stabilisatoren zugesetzt sein. Die Entfernung des Lösungsmittels erfolgt durch kontinuierliche Evaporation über einen Dünnschichtverdampfer (z.B. Sambay) oder durch
- 35

- cross-flow-Filtration. Zur Verfestigung der Partikel kann eine separate Entfernung des Lösungsmittels entfallen, wenn das Lösungsmittel eine ausreichend hohe Löslichkeit in Wasser besitzt. Die Partikel können in diesem Fall durch konventionelle Trennmethode wie Filtration, Sedimentation oder
- 5 Zentrifugation abgetrennt werden.

Verfahrensvariante II

- Die partikelbildende Substanz (z.B. synthetisches Polymer, natürliche Substanz, Wirkstoff) wird in einer organischen Phase gelöst und dann als innere Phase (I) mit einer ihr mischbaren äußeren Phase (A) mittels Mikromischer dispergiert. Das Lösungsmittel der inneren Phase diffundiert in das Lösungsmittel der äußeren Phase und die partikelbildende Substanz bildet Partikel aus. Zur Stabilisierung der erhaltenen Dispersion können den Phasen Tenside, Viskositätssteigerer, weitere Lösungsmittel und/oder andere Stabilisatoren
- 15 zugesetzt sein.
- Die Entfernung des Lösungsmittels erfolgt durch kontinuierliche Evaporation über einen Dünnschichtverdampfer (z.B. Sambay) oder durch cross-flow-Filtration. Die Partikel können auch durch konventionelle Trennmethode wie Filtration, Sedimentation oder Zentrifugation abgetrennt werden.

20

Verfahrensvariante III:

- Alternativ zur Partikelbildung durch Lösungsmittelentzug können die Partikel auch durch Koazervation hergestellt werden. Dabei ist die partikelbildende Substanz in dem Dispersionsmedium, das auch Stabilisatoren enthalten kann, gelöst. Im Mikromischer wird nun eine ganz oder teilweise im Dispersionsmedium unlösliche innere Phase, die wirkstoffhaltig sein kann, mit dem Dispersionsmedium dispergiert. Die Koazervation kann durch physikalische Maßnahmen wie die Veränderung der Temperatur oder des pH-Wertes, sowie durch den Zusatz von Salzen (z.B. Natriumsulfat) oder Alkohol ausgelöst werden, wobei sich die gelöste partikelbildende Substanz auf der dispersen Phase abscheidet (einfache Koazervation).
- 25
- 30
- Eine die Koazervation auslösende Substanz kann im Dispersionsmedium oder einer Vorlage gelöst sein, in die die Dispersion eingeleitet wird.

Verfahrensvariante IV:

- Partikel können aber auch ohne Lösungsmittel hergestellt werden, wenn die partikelbildende Substanz durch Erwärmen in den flüssigen Aggregatzustand überführt werden kann (z.B. bei Raumtemperatur feste Lipide, Wachse,
- 5 Polymere oder Wirkstoffe). Man verfährt in diesem Fall in der Weise, daß in dem Mikromischer eine geschmolzene partikelbildende Substanz in einem geeigneten Dispersionsmedium bei erhöhter Temperatur dispergiert wird. In dem Dispersionsmedium können gegebenenfalls noch Tenside gelöst sein.
- 10 Verfahrensvariante V:
- Zur Herstellung von Kapseln kann z.B. ein flüssiger Kapselinhalt (Öl oder flüssiges Lipid) im Mikromischer in einer äußeren Phase dispergiert werden, die die partikelbildende Substanz gelöst enthält (z.B. Gelatine in Wasser). Die hergestellte Dispersion wird direkt in eine Fällungslösung geleitet (z.B. 5 %
- 15 NaCl-Lösung). Die partikelbildende Substanz (z.B. Gelatine) fällt aus und zieht sich im Rahmen des Phasenseparationsprozesses unter Bildung der Kapselwand auf den Kapselinhalt auf.

Verfahrensvariante VI:

- 20 Zur Herstellung von Kapseln nach dem $W_1/O/W_2$ -Prinzip werden zwei Mikromischer oder ein statischer Mischer und ein Mikromischer hintereinandergeschaltet. Im ersten Mischer wird die W_1 Phase im organischen Lösungsmittel dispergiert, das die partikelbildende Substanz in gelöster Form enthält (O Phase), z.B. PLA in Ethylacetat. Im nachgeschalteten Mischer wird
- 25 dann die W_1/O Emulsion in der wäßrigen Phase (W_2) dispergiert. Es entsteht ein $W_1/O/W_2$ -System, das wie unter Variante I getrocknet werden kann. Den Phasen können ggf. Salze, Tenside oder Lösungsmittel zugesetzt sein.

Verfahrensvariante VII:

- 30 Eine Mikropartikelbildung kann auch durch Vernetzung von gelöster partikelbildender Substanz (vorwiegend natürliche Polymere) erfolgen. Die Vernetzung zu unlöslichen Verbindungen kann durch geeignete chemische Reaktionen (Vernetzung von Proteinen mit Aldehyden) oder aber auch durch entgegengesetzt geladene Ionen (z.B. durch Ca^{2+} bei Alginaten) herbeigeführt
- 35 werden. Man verfährt in diesem Fall beispielsweise so, daß in dem Mikromischer eine Phase, in der die partikelbildende Substanz, sowie das beispielsweise durch Komplexbildung inaktivierte Vernetzungsreagenz gelöst

- sind, mit einer zweiten, den Stabilisator (z.B. Tensid) enthaltenden Phase, dispergiert wird. Der Aktivator für das Vernetzungsreagenz kann sowohl im Dispersionsmittel als auch in einer Vorlage, in der die hergestellte Dispersion aufgefangen wird, enthalten sein. Der Aktivator kann beispielsweise eine
- 5 Substanz sein, die die Freisetzung eines komplexierten Vernetzungsreagenzes aus dem Komplex bewirkt.

- Das Phasenvolumenverhältnis I:A (innere Phase (I) zu äußerer Phase (A)) beträgt 1:1 bis 1:20, vorzugsweise 1:2 bis 1:10.
- 10 Bei einer Partikelherstellung über Doppelemulsionen vom Typ $W_1/O/W_2$ beträgt das Phasenvolumenverhältnis $W_1:O:W_2$ 1:1:1 bis 1:10:100, vorzugsweise 1:2:4 bis 1:8:50.

- Als partikelbildende Substanz können bioabbaubare, synthetische und/oder
- 15 natürliche Substanzen eingesetzt werden. Die Partikel können auch aus reinem Wirkstoff bestehen. Die partikelbildende Substanz kann vorgefertigt sein oder während der Herstellung z.B. durch Polymerisation entstehen.

- Als bioabbaubare synthetische Polymere sind bevorzugt Polyester von
- 20 Hydroxycarbonsäuren, die in dem erfindungsgemäßen Verfahren eingesetzt werden können:
- Polyglycolide (PGA) und Copolymere von Glycoliden wie Glycolid/Lactid Copolymere (PGA/PLA=PLGA) oder Glycolid/Trimethylencarbonat Copolymere (PGA/TMC); L-Polylactide (PLA) und Stereocopolymere von Polylactiden wie
- 25 Poly-L-Lactid (PLLA), Poly-DL-Lactid Copolymere und L-Lactid /DL-Lactid Copolymere; Copolymere von PLA wie Lactid/Tetramethylglycolid Copolymere, Lactid/ δ -Valerolacton Copolymer und Lactid/ ϵ -Caprolacton Copolymer; Poly- β -hydroxybutyrat (PHBA), PHBA/ β -Hydroxyvalerat Copolymere (PHBA/HVA), Poly- β -hydroxypropionat (PHPA), Poly-p-dioxanon (PDS), Poly- δ -valerolacton,
- 30 hydrophobisierte Polysaccharide, - Hyaluronsäure, - Dextrane oder hydrophobisiertes Amylopektin und Poly- ϵ -caprolacton.

- Als Blockcopolymere von Polyestern von Hydroxycarbonsäuren und linear- oder
- 35 Star-Polyethylenglykol (PEG) können in dem erfindungsgemäßen Verfahren die nachfolgend genannten Anwendung finden:

AB-Blockcopolymere aus PLA oder PLGA und PEG, ABA-Triblock-Copolymere aus PLA-PEG-PLA bzw. -PLGA, S(3)-PEG-PLA bzw. -PLGA Blockcopolymere und S(4)-PEG-PLA bzw. -PLGA Blockcopolymere.

- 5 Bevorzugt sind gemäß der Erfindung PLGA-Polymere mit einem Lactid/Glycolidverhältnis von 50:50, 75:25, 85:15 oder dazwischen liegende Mischungen. Die verwendeten mittleren Molekulargewichte liegen zwischen 1000 und 300000 Dalton. Es können auch Mischungen verschiedener Molekulargewichte vorliegen. Bevorzugt sind mittlere Molekulargewichte
- 10 zwischen 10000 und 250000 Dalton.
Beispiele für diese bevorzugten Polymere sind Resomer® RG-505 insbesondere Resomer® RG-752, Resomer® RG-756 oder Resomer® RG- 858.
- 15 Daneben können auch Polyamide (z.B. Poly-ε-caprolactam), Polyanhydride (z.B. Poly-carboxyphenoxyalkylcarbonsäuren), Polyorthoester, Polyacetate, Polycarbonatcarbonate, Polyphosphazene u. a. geeignete Polymere Verwendung finden.
- 20 Bevorzugte erfindungsgemäße natürliche Substanzen sind Fette (Lipide und Lipide), natürliche und künstliche Mono-, Di- und Triglyceride, natürliche und künstliche Wachse, Kohlenwasserstoffe, Fettalkohole und ihre Ester und Ether, Lipidpeptide, Proteine und Zucker, sowie deren Derivate und Gemische wie z.B.:
- 25 Glycerintrilaurat, -myristat, -palmitat, -stearat, -behenat, Glycerintrioleat, Glycerolmonopalmitostearat, Cetylpalmitat, Kokosfett, Stearylalkohol-, Glycol-, Butandiol- und Glycerolester folgender Fettsäuren:
Ameisen-, Essig-, Propion-, Butter-, Valerian-, Capron-, Önanth-, Capryl-, Pelargon-, Caprin-, Undecan-, Laurin-, Tridecan-, Myristin-, Pentadecan-,
- 30 Palmitin-, Margarin-, Stearin-, Nonadecan-, Arachin-, Behen-, Lignocerin-, Cerotin-, Melissin-, Isobutter-, Isovalerian-, Tuberculostearin-, Acryl-, Croton-, Palmitolein-, Öl-, Eruca-, Sorbin-, Linol-, Linolen-, Elaeostearin-, Arachidon-, Clupanodon- und/oder Docosahexaensäure.
Hartparaffin, Oleylalkohol, Stearylalkohol, Cetylalkohol, gebleichtes Wachs,
- 35 Gelatine, Humanserumalbumin, Bovinserumalbumin, Natriumalginat, Chitosan, Cellulose, Methylcellulose, Ethylcellulose, Hydroxypropylcellulose,

Hydroxyethylcellulose, Natriumcarboxymethylcellulose, Pektin, Xanthan und Stärke oder deren Gemische.

- Erfindungsgemäß einsetzbare Lösungsmittel oder Lösungsmittelgemische sind
- 5 Ethanol, Isopropanol, Methanol, Alkylacetate wie Methyl-, Ethyl-, Propyl-, Isopropyl- oder Butylacetat, Alkylformiate wie Methyl-, Ethyl-, Propyl-, Isopropyl- oder Butylformiat, Triacetin, Triethylcitrat und/oder C₁-C₄ -Alkylactate z. B. Methyl- oder Ethyllactat, Ketone z.B. Aceton, Ethylmethylketon.
- 10 Bevorzugt werden Methylacetat, Ethylacetat, Propylacetat, Isopropylacetat und Propylformiat eingesetzt.

- Im Sinne der Erfindung werden als oberflächenaktive Substanzen Poloxamere (Polyoxyethylen-Polyoxypropylen Blockcopolymere), Poloxamine (Polyoxyethylen-Polyoxypropylen Blockpolymere des Ethylendiamins),
- 15 Polyethylenglycol Alkylether, Sorbitanfettsäureester (Span[®]), ethoxylierte Sorbitanfettsäureester (Polysorbate, Tween[®]), Saccharosefettsäureester, Gelatine, Polyvinylpyrrolidon, Fettalkoholpolyglycosid, CHAPS, CHAPSO, Decyl- β -D-Glycopyranosid, Decyl- β -D-Maltopyranosid, Dodecyl- β -D-Maltopyranosid, Natriumoleat, Polyethylenglykol, Polyvinylalkohol,
- 20 polyoxyethylierte Fettsäureether (Brij[®]), Alkylphenolpoly(oxy)ethylene (z.B. Triton X-100[®]), Phospholipide wie z.B. Lecithine oder Lecithinderivate, Cholesterin und Cholesterinderivate, Cholate oder deren Gemische.

- Bevorzugt finden Phospholipide, Polyvinylalkohol, polyoxyethylierte
- 25 Fettsäureether (Brij[®]), Poloxamere (Polyoxyethylen-Polyoxypropylen Blockcopolymere), Poloxamine (Polyoxyethylen-Polyoxypropylen Blockpolymere des Ethylendiamins), ethoxylierte Sorbitanfettsäureester (Polysorbate, Tween[®]), Natriumcholat und Saccharosefettsäureester oder deren Gemische Anwendung.

- 30 Weiterhin ist die Verwendung viskositätserhöhender Substanzen zur Stabilisierung der inneren und äußeren Phase möglich.
- Es können beispielsweise Celluloseether und -ester wie Methylcellulose, Hydroxyethylcellulose oder Hydroxypropylcellulose, Polyvinyllderivate wie
- 35 Polyvinylalkohol, Polyvinylpyrrolidon oder Polyvinylacetat, Polyacrylsäure (z.B. Carbopol) und deren Derivate sowie Xanthane oder Pektine und deren Gemische eingesetzt werden.

Gegenstand der Erfindung sind auch morphologisch einheitliche Mikro- bzw. Nanopartikelpartikel, die nach dem genannten Verfahren hergestellt werden. Die Partikelgrößenverteilungen sind sehr eng.

5

Anschließend wird die Erfindung an Ausführungsbeispielen näher erläutert, ohne sie darauf einzuschränken.

Beispiel 1: Herstellung von PLA-Mikropartikeln
Verfahrensvariante I

- 2,0 g Resomer RG 858 werden in 38,0 g Ethylacetat gelöst (innere Phase = I).
- 5 2,0 g Poloxamer 188 (Synperonic F68) werden in 198,0 g destilliertem Wasser gelöst (äußere Phase = A). Die Lösungen werden mittels HPLC Pumpen (Gynkotec) durch einen Mikromischer (Institut für Mikrotechnik, Mainz (IMM), Deutschland) gepumpt. Die Mikrokanalbreite beträgt 40 μm . Das Phasenvolumenverhältnis I:A beträgt 1:8. Die Partikelgrößenbestimmung mittels
- 10 Laserdiffraktometrie (LS 130, Coulter Electronics, USA) der frisch dispergierten Partikel ergibt einen mittleren Volumen-Durchmesser D_{50} von 3,0 μm , 98 % der Partikel liegen zwischen 0,5 μm und 11,1 μm . Der mittlere Durchmesser D_{50} der Anzahlverteilung beträgt 606 nm.
- Die Vollständigkeit der Lösungsmittelentfernung kann dadurch gezeigt werden,
- 15 daß auch eine Nachtrocknung nicht mehr zu einer Abnahme der Partikelgröße führt. Die Größe der Partikel nach Dispergierung mit dem Mischer und nach Nachtrocknung sind praktisch identisch (Fig. 6).

20 Beispiel 2: Herstellung von Partikeln aus Hartfett (Witepsol H5):
Verfahrensvariante IV

- 40,0 g Hartfett (Witepsol H5) werden bei 70 °C aufgeschmolzen (innere Phase = I). 2,0 g Poloxamer 188 (Synperonic F68) werden in 198,0 g
- 25 destilliertem Wasser gelöst (äußere Phase = A). Die äußere Phase wird ebenfalls auf 70 °C erhitzt. Die Lösungen werden mittels HPLC Pumpen (Gynkotec) durch einen Mikromischer (IMM) gepumpt. Die Mikrokanalbreite beträgt 40 μm . Das Phasenvolumenverhältnis I:A beträgt 1:7.
- Die Partikelgrößenbestimmung mittels Laserdiffraktometrie ergibt einen
- 30 mittleren Volumen-Durchmesser D_{50} von 2,4 μm , 98 % der Partikel liegen zwischen 0,6 μm und 6,9 μm .

Beispiel 3: Gelatinekapseln
Verfahrensvariante III

- 1,0 g Gelatine werden in 39,0 g destilliertem Wasser bei 70 °C gelöst (äußere Phase = A). 10 ml Maiskeimöl werden auf 70 °C erwärmt (innere Phase = I). Die Lösungen werden mittels HPLC Pumpen durch einen Mikromischer (IMM) gepumpt. Die Mikrokanalbreite beträgt 40 µm. Das Phasenvolumenverhältnis I:A beträgt 1:7. Die Partikelgrößenbestimmung mittels Laserdiffraktometrie ergibt einen mittleren Volumen-Durchmesser D_{50} von 2,3 µm, 98 % der Partikel liegen zwischen 0,4 µm und 9,1 µm.

Beispiel 4 Alginatepartikel, Einheitlichkeit der Partikel
Verfahrensvariante VII

15

- 0,5 g Natriumalginate und 0,25 g $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ werden in 50,0 ml wäßriger 0,1 M EDTA-Lösung gelöst und mit destilliertem Wasser auf 160,0 ml ergänzt (innere Phase). 1,0 g Span 80 werden in 175,0 g Propylacetat gelöst (äußere Phase = A). Als Vorlage diente eine Lösung von Acetanhydrid in Propylacetat. Die Lösungen werden mittels HPLC Pumpen (Gynkotec) durch einen Mikromischer (Institut für Mikrotechnik, Mainz, Deutschland) in die Vorlage gepumpt. Die Mikrokanalbreite beträgt 40 µm. Das Phasenvolumenverhältnis I:A beträgt 1:3. Die einheitliche Größe der erhaltenen Mikropartikel zeigt das mikroskopische Bild in Fig. 7.

Beispiel 5: Einheitlichkeit des Produktes nach Herstellung mit Mikromischer

- PLA-Mikropartikel werden nach Beispiel 1 hergestellt. Zum Vergleich erfolgt die Herstellung mit einem hochtourigen Rührer Ultra-Turrax (Janke und Kunkel, Modell RW20 DZM) unter Verwendung des Rührwerkzeugs S 25N-10G bei 24000 Umdrehungen pro Minute für 5 Minuten. Fig. 8 zeigt die mit beiden Methoden erhaltenen Partikelgrößenverteilungen. Die erfindungsgemäß hergestellten Partikel sind hinsichtlich der Einheitlichkeit den Partikeln, die mittels Ultra-Turrax hergestellt werden, eindeutig überlegen.

Beispiel 6: Reproduzierbarkeit der Herstellmethode:

Die Rezeptur von Beispiel 1 wird sechsmal hergestellt und die Partikelgröße mittels Laserdiffraktometrie analysiert. Fig. 9 zeigt ein Overlay sämtlicher 6

5 Kurven, Tab. 1 gibt die wichtigsten Durchmesser an.

Tab. 1:

Volumen %	Reihe1 Partikel- Durchmesser	Reihe2 Partikel- Durchmesser	Reihe3 Partikel- Durchmesser	Reihe4 Partikel- Durchmesser	Reihe5 Partikel- Durchmesser	Reihe6 Partikel- Durchmesser
	$\mu\text{m} <$	$\mu\text{m} <$	$\mu\text{m} <$	$\mu\text{m} <$	$\mu\text{m} <$	$\mu\text{m} <$
1	0,856	0,571	0,707	0,634	0,393	0,890
10	1,525	1,492	1,324	1,279	1,031	1,543
25	2,203	2,211	1,961	1,958	1,74	2,211
50	3,278	3,328	2,952	3,028	2,835	3,275
75	4,742	4,826	4,236	4,428	4,188	4,716
90	6,379	6,456	5,612	5,941	5,596	6,297
99	9,235	9,164	7,965	8,595	7,944	8,892
Standard- abweichung s [μm]	1,91	1,94	1,67	1,82	1,76	1,85

10

Beispiel 7: Testosteron Mikropartikel
Verfahrensvariante II

0,2 g Testosteron werden in 9,8 g Aceton (innere Phase = I) gelöst. 1,4 g

15 Syneronic®F68 in 68,6 g destilliertem Wasser gelöst (äußere Phase = A). Die
Lösungen werden mittels HPLC Pumpen durch einen Mikromischer (IMM)
gepumpt. Die Mikrokanalbreite beträgt 40 μm . Das Phasenvolumenverhältnis
I:A beträgt 1:7. Die Partikelgrößenbestimmung mittels Laserdiffraktometrie
ergibt einen mittleren Volumen-Durchmesser D_{50} von 1,5 μm , 98 % der Partikel
20 liegen zwischen 0,1 μm und 2,7 μm .

Beispiel 8: Herstellung von methylenblauhaltigen PLGA Mikrokapseln
Verfahrensvariante VI

- 2,0 g Resomer RG 858 und 0,4 g Span 80 werden in 38,0 g Ethylacetat gelöst
5 (Phase O). 0,025 g Methylenblau werden in 9,975 g destilliertem Wasser gelöst (Phase W₁). Die Lösungen werden mittels HPLC Pumpen (Gynkotec) durch einen Mikromischer (Institut für Mikrotechnik, Mainz, Deutschland) gepumpt. Die Mikrokanalbreite beträgt 25 µm. Das Phasenvolumenverhältnis W₁:O beträgt 1:4.
- 10 Die entstandene W/O-Emulsion wird in einen zweiten Mikromischer mit einer Mikrokanalbreite von 40 µm geleitet. Als zweite Phase wird eine wäßrige 4 %ige Poloxamer 188 (Synperonic F68) Lösung hinzugegeben (Phase W₂). Das Phasenvolumenverhältnis W₁:O:W₂ beträgt = 1:4:15.
- 15 Die resultierenden Kapseln zeigen einen mittleren Volumendurchmesser von D₅₀ = 1,06 µm, 98 % der Mikrokapseln liegen zwischen 0,13 µm und 5,14 µm.

Beispiel 9: Herstellung von Ethinylestradiol-haltigen PLA-Mikropartikeln
Verfahrensvariante I

- 20 Es werden Mikropartikel analog Beispiel 1 hergestellt. Zusätzlich sind 0,2 g Ethinylestradiol in der organischen Phase gelöst.

25 Beispiel 10: Herstellung von Estradiol-haltigen PLA-Mikropartikeln
Verfahrensvariante I

- Es werden Mikropartikel analog Beispiel 1 hergestellt. Zusätzlich sind 0,2 g Estradiol in der organischen Phase gelöst.
- 30

Beispiel 11: Herstellung von Testosteron-haltigen PLA-Mikropartikeln
Verfahrensvariante I

- 35 Es werden Mikropartikel analog Beispiel 1 hergestellt. Zusätzlich sind 0,2 g Testosteron in der organischen Phase gelöst.

Beispiel 12: Herstellung von Gestoden-haltigen PLA-Mikropartikeln
Verfahrensvariante I

- Es werden Mikropartikel analog Beispiel 1 hergestellt. Zusätzlich sind 0,2 g
5 Gestoden in der organischen Phase gelöst.

Beispiel 13: Herstellung von Levonorgestrel-haltigen PLA-Mikropartikeln
Verfahrensvariante I

- 10 Es werden Mikropartikel analog Beispiel 1 hergestellt. Zusätzlich sind 0,2 g
Levonorgestrel in der organischen Phase gelöst.

- 15 Beispiel 14: Herstellung von Poloxamer[®] F68-stabilisierten, Humanserum-
albumin-haltigen PLGA-Mikrokapseln
Verfahrensvariante VI

- 5,0 g Resomer RG 752 werden in 95,0 g Ethylacetat gelöst (Phase O). 0,200 g
20 Humanserumalbumin (HSA) werden in 19,8 g destilliertem Wasser gelöst
(W₁- Phase). Die Lösungen werden mittels HPLC Pumpen (Gynkotec) durch
einen Mikromischer (Institut für Mikrotechnik, Mainz, Deutschland) gepumpt. Die
Mikrokanalbreite beträgt 40 µm. Das Phasenvolumenverhältnis W₁:O beträgt
1:6.
25 Die entstandene W₁/O-Emulsion wird in einen zweiten Mikromischer mit einer
Mikrokanalbreite von 40 µm geleitet. Als zweite Phase wird eine wäßrige 4 %ige
Poloxamer 188 (Synperonic F68) Lösung hinzugegeben (Phase W₂). Das
Phasenvolumenverhältnis W₁:O:W₂ beträgt 1:6:21
Die resultierenden Kapseln zeigen einen mittleren Volumendurchmesser von
30 D₅₀= 1,06 µm, 90 % der Mikrokapseln sind kleiner 1,80 µm.
Die Beladung der Mikrokapseln betrug 6,7% der theoretisch zu erzielenden
Beladung von 3,23%(m/m), d.h. es wurde eine absolute Beladung von 0,22%
(m/m) erreicht.

Beispiel 15: Herstellung von Natriumcholat stabilisierten, Humanserumalbumin-haltigen PLGA-Mikrokapseln
Verfahrensvariante VI

- 5 Es werden Mikrokapseln analog Beispiel 14 hergestellt, wobei in der äußeren wäßrigen (W_2 -) Phase anstelle des Poloxamer F68 nun 0,5 % (m/m) Natriumcholat zur Stabilisierung verwendet wird. Der mittlere Volumendurchmesser D_{50} beträgt 2,18 μm , der D_{90} beträgt 4,15 μm .
- 10
- Beispiel 14: Herstellung von Poloxamer® stabilisierten, Humanserumalbumin-haltigen PLGA-Mikrokapseln, Ethanolzusatz
Verfahrensvariante VI
- 15 Es werden Mikrokapseln analog Beispiel 14 hergestellt, wobei die äußere wäßrige Phase neben 4 % (m/m) Poloxamer® noch einen Anteil von 37,5 % (m/m) Ethanol enthielt. Der mittlere Volumendurchmesser D_{50} beträgt 1,15 μm , der D_{90} beträgt 3,13 μm .

Patentansprüche

1. Kontinuierliches Verfahren zur Herstellung von morphologisch
5 einheitlichen Mikro- oder Nanopartikeln aus bioabbaubaren synthetischen und/oder aus natürlichen Substanzen, dadurch gekennzeichnet, daß die Herstellung mittels eines Mikromischers erfolgt, der eine Mischkammer mit ineinandergreifenden Mikrokanälen enthält.
- 10 2. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß die Mikrokanäle eine Mikrokanalbreite von 1 bis 1000 µm aufweisen.
3. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 oder 2, dadurch gekennzeichnet, daß die Wände der Mikrokanäle wellenförmig, parallel oder zickzackförmig
15 ausgestaltet sind.
4. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 3, dadurch gekennzeichnet, daß die Mischkammer eine LIGA-Mischkammer ist.
- 20 5. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 4, dadurch gekennzeichnet, daß die partikelbildende flüssige Phase und das Dispersionsmedium dem Mikromischer im Gegenfluß, Gleichfluß oder koaxial zugeführt werden.
- 25 6. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 5, dadurch gekennzeichnet, daß die partikelbildende flüssige Phase eine wäßrige oder organische Lösung einer partikelbildenden Substanz oder eine geschmolzene partikelbildende Substanz ist, der ggf. Tenside, Viskositätssteigerer, Lösungsmittel oder andere Stabilisatoren zugesetzt werden.
- 30 7. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 6, dadurch gekennzeichnet, daß das Dispersionsmedium Wasser, eine wäßrige Lösung, eine hydrophile Flüssigkeit, eine organische Lösung oder eine ölige Flüssigkeit ist, der ggf. eine die Koagulation auslösende und/oder löslichkeitsvermindernde Substanz, Tenside, Viskositätssteigerer und/oder
35 Lösungsmittel zugesetzt werden.

8. Verfahren nach Ansprüchen 1 bis 7, dadurch gekennzeichnet, daß das Dispersionsmedium eine ein- oder mehrphasige Mischung aus mindestens zwei Dispersionsmedien ist.
- 5 9. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 8, dadurch gekennzeichnet, daß die partikelbildende flüssige Phase und das Dispersionsmedium dem Mikromischer drucklos oder bei Flüssigkeitsdrücken von bis zu ca. 30 bar zugeführt werden.
- 10 10. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 9, dadurch gekennzeichnet, daß das Mischprodukt senkrecht oder parallel zur Flußrichtung über einen Auslaßkanal gewonnen wird.
11. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 10, dadurch gekennzeichnet, daß das Verfahren zur Verkapselung von Wirkstoffen verwendet wird.
- 15 12. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 11, dadurch gekennzeichnet, daß das Verfahren zur Herstellung von Wirkstoffpartikeln verwendet wird.
- 20 13. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 12, dadurch gekennzeichnet, daß der zu verkapselnde Wirkstoff, direkt oder gelöst in einem geeigneten Medium, in der partikelbildenden flüssigen Phase gelöst, suspendiert oder emulgiert wird.
- 25 14. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 13, dadurch gekennzeichnet, daß die Emulgierung eines Wirkstoffes oder einer Wirkstofflösung in die flüssige partikelbildende Phase durch einen vorgeschalteten Mischer, vorzugsweise Mikromischer erfolgt.
- 30 15. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 14, dadurch gekennzeichnet, daß der oder die Wirkstoffe oder die Wirkstofflösung durch eine weitere Einlaßbohrung dem Mikromischer zugeführt wird und die Vermischung im Mikromischer erfolgt.

16. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 15, dadurch gekennzeichnet, daß als Lösungsmittel Ethanol, Isopropanol, Methanol, Alkylacetate wie Methyl-, Ethyl-, Propyl-, Isopropyl- oder Butylacetat, Alkylformiate wie Methyl-, Ethyl-, Propyl-, Isopropyl- oder Butylformiat, Triacetin, Triethylcitrat und/oder C₁-C₄-Alkyl lactate z. B. Methyl- oder Ethyllactat, Ketone z.B. Aceton, Ethylmethylketon verwendet werden.
17. Verfahren nach Anspruch 16, dadurch gekennzeichnet, daß als halogenfreie Lösungsmittel Methylacetat, Ethylacetat, Propylacetat, Isopropylacetat und Propylformiat verwendet werden.
18. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 17, dadurch gekennzeichnet, daß als bioabbaubare synthetische vorgefertigte Polymere Polyester von Hydroxycarbonsäuren eingesetzt werden: Polyglycolide (PGA) und Copolymere von Glycoliden wie Glycolid/Lactid Copolymere (PGA/PLA=PLGA) oder Glycolid/Trimethylencarbonat Copolymere (PGA/TMC); L-Polylactide (PLA) und Stereocopolymere von Polylactiden wie Poly-L-Lactid (PLLA), Poly-DL-Lactid Copolymere und L-Lactid /DL-Lactid Copolymere; Copolymere von PLA wie Lactid/Tetramethylglycolid Copolymere, Lactid/ δ -Valerolacton Copolymer und Lactid/ ϵ -Caprolacton Copolymer; Poly- β -hydroxybutyrat (PHBA), PHBA/ β -Hydroxyvalerat Copolymere (PHBA/HVA), Poly- β -hydroxypropionat (PHPA), Poly-p-dioxanon (PDS), Poly- δ -valerolacton, hydrophobisierte Polysaccharide, - Hyaluronsäure, - Dextrane oder hydrophobisiertes Amylopektin und Poly- ϵ -caprolacton.
19. Verfahren nach Anspruch 18, dadurch gekennzeichnet, daß als bioabbaubare synthetische Polymere Blockpolymere von Polyestern von Hydroxycarbonsäuren und linear- oder Star-Polyethylenglykol (PEG) eingesetzt werden: AB-Blockcopolymere aus PLA oder PLGA und PEG, ABA-Triblock-Copolymere aus PLA-PEG-PLA bzw. -PLGA, S(3)-PEG-PLA bzw. -PLGA Blockcopolymere und S(4)-PEG-PLA bzw. -PLGA Blockcopolymere.

20. Verfahren nach Anspruch 19, dadurch gekennzeichnet, daß als bioabbaubare synthetische Polymere Glycolid/Lactid Copolymere wie beispielsweise Resomer® RG-505, Resomer® RG-752, Resomer® RG-756 oder Resomer® RG-858 mit einem Lactid/Glycolidverhältnis von 50:50, 75:25, 85:15 oder dazwischen liegende Mischungen und einem mittleren Molekulargewichte zwischen 10000 und 250000 Dalton eingesetzt werden.
- 10 21. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 21, dadurch gekennzeichnet, daß als natürliche Substanzen Fette (Lipide und Lipoide), natürliche und künstliche Mono-, Di- und Triglyceride, natürliche und künstliche Wachse, Kohlenwasserstoffe, Fettalkohole und ihre Ester und Ether, Lipidpeptide, Proteine und Zucker, sowie deren Derivate und/oder deren Gemische verwendet werden.
- 15 22. Verfahren nach Anspruch 21, dadurch gekennzeichnet, daß als natürliche Substanzen verwendet werden:
- 20 Glycerintrilaurat, -myristat, -palmitat, -stearat, -behenat, Glycerintrioleat, Glycerolmonopalmitostearat, Cetylpalmitat, Kokosfett, Stearylalkohol-, Glycol-, Butandiol- und Glycerolester folgender Fettsäuren:
- 25 Ameisen-, Essig-, Propion-, Butter-, Valerian-, Capron-, Önanth-, Capryl-, Pelargon-, Caprin-, Undecan-, Laurin-, Tridecan-, Myristin-, Pentadecan-, Palmitin-, Margarin-, Stearin-, Nonadecan-, Arachin-, Behen-, Lignocerin-, Cerotin-, Melissin-, Isobutter-, Isovalerian-, Tuberculoestearin-, Acryl-, Croton-, Palmitolein-, Öl-, Eruca-, Sorbin-, Linol-, Linolen-, Elaeostearin-, Arachidon-, Clupanodon- und/oder Docosahexaensäure
- 30 Hartparaffin, Oleylalkohol, Stearylalkohol, Cetylalkohol, gebleichtes Wachs, Gelatine, Humanserumalbumin, Bovinserumalbumin, Natriumalginat, Chitosan, Cellulose, Methylcellulose, Ethylcellulose, Hydroxypropylcellulose, Hydroxyethylcellulose, Natriumcarboxymethylcellulose, Pektin, Xanthan und Stärke oder deren Gemische.

23. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 22, dadurch gekennzeichnet, daß als oberflächenaktive Substanzen eingesetzt werden:
Poloxamere (Polyoxyethylen-Polyoxypropylen Blockcopolymere),
5 Poloxamine (Polyoxyethylen-Polyoxypropylen Blockpolymere des Ethylendiamins), Polyethylenglycol Alkylether, Sorbitanfettsäureester (Span®), ethoxylierte Sorbitanfettsäureester (Polysorbate, Tween®), Saccharosefettsäureester, Gelatine, Polyvinylpyrrolidon, Fettalkoholpolyglycosid, CHAPS, CHAPSO, Decyl-β-D-Glycopyranosid,
10 Decyl-β-D-Maltopyranosid, Dodecyl-β-D-Maltopyranosid, Natriumoleat, Polyethylenglykol, Polyvinylalkohol, polyoxyethylierte Fettsäureether (Brij®), Alkylphenolpoly(oxyethylene (z.B. Triton X-100®), Phospholipide wie z.B. Lecithine oder Lecithinderivate, Cholesterin und Cholesterinderivate, Cholate oder deren Gemische.
- 15 24. Verfahren nach Anspruch 23, dadurch gekennzeichnet, daß als oberflächenaktive Substanzen eingesetzt werden:
Phospholipide, Polyvinylalkohol, polyoxyethylierte Fettsäureether (Brij®),
Poloxamere (Polyoxyethylen-Polyoxypropylen Blockcopolymere),
20 Poloxamine (Polyoxyethylen-Polyoxypropylen Blockpolymere des Ethylendiamins), ethoxylierte Sorbitanfettsäureester (Polysorbate, Tween®), Natriumcholat und Saccharosefettsäureester oder deren Gemische
- 25 25. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 24, dadurch gekennzeichnet, daß die Entfernung des Lösungsmittels bzw. Lösungsmittelgemisches, sowie ggf. die Entfernung von unverkaspeltem Wirkstoff und/oder des/der Tenside in einer cross-flow-Filtration oder mit einem Dünnschichtverdampfer erfolgt.
- 30 26. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 25, dadurch gekennzeichnet das ein Scaling-up vom Labor- auf einen Produktionsmaßstab durch die Parallelschaltung von mehreren Mikromischern und/oder durch den Einsatz von Mischer-Arrays (Numbering-up) durchgeführt wird.
- 35 27. Morphologisch einheitliche Mikropartikel erhältlich nach dem Verfahren gemäß der Ansprüche 1 bis 26.

- 1 / 9 -

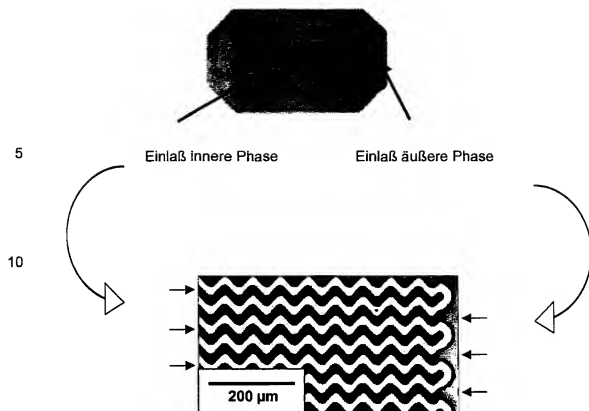


Fig. 1:

- 2 / 9 -

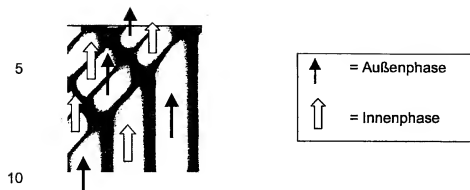


Fig. 2:

- 3 / 9 -

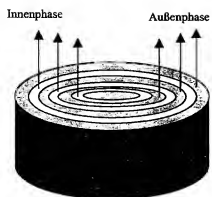


Fig. 3:

- 4 / 9 -

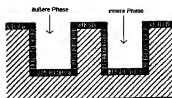
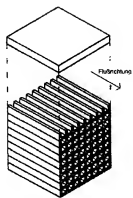
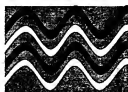


Fig. 4 :

- 5 / 9 -

schwarz: Phase 1, hellgrau: Phase 2

5



10 Fig. 5:

- 6 / 9 -

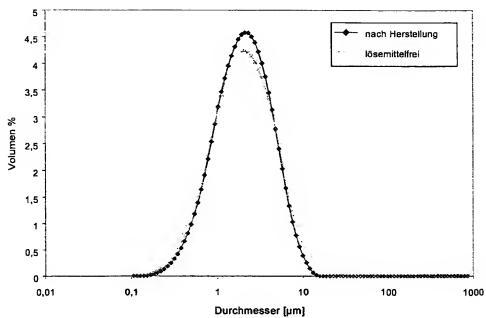


Fig. 6 :

- 7 / 9 -

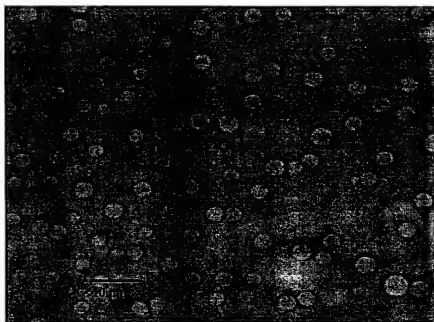


Fig. 7:

- 8 / 9 -

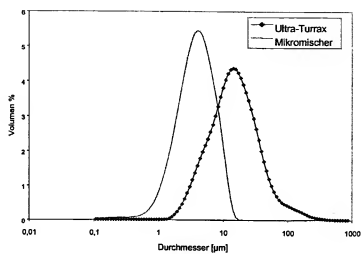


Fig. 8:

- 9 / 9 -

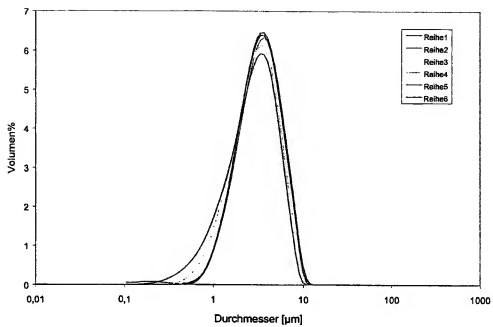


Fig. 9:

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

		In: national Application No PCT/DE 00/01677	
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER IPC 7 B01J13/02 A61K9/50 A61K9/51 A61K9/16 B01F5/06			
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC			
B. FIELDS SEARCHED Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) IPC 7 B01J A61K B01F			
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched			
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used) EPO-Internal, WPI Data			
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT			
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.	
X	WO 97 30783 A (JAPAN REPRESENTED BY DIRECTOR ;NAKAJIMA MITSUTOSHI (JP); KIKUCHI Y) 28 August 1997 (1997-08-28)	1-7,9, 10,27	
P,X	-& EP 0 963 787 A (JAPAN REPRESENTED BY DIRECTOR GENERAL OF NATIONAL FOOD RESEARCH INSTIT) 15 December 1999 (1999-12-15) cited in the application column 2, line 7 - line 34 column 3, line 48 -column 4, line 56; figures 3-9; examples 1,2	1-7,9, 10,27	
X	DE 195 45 257 A (SCHERING AG) 19 June 1997 (1997-06-19)	27	
A	page 3, line 32 -page 4, line 40	16-26	
	-/-		
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of box C.		<input checked="" type="checkbox"/> Patent family members are listed in annex.	
* Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier document but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family			
Date of the actual completion of the international search 6 November 2000		Date of mailing of the international search report 13/11/2000	
Name and mailing address of the ISA European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl, Fax. (+31-70) 340-3016		Authorized officer Cubas Alcaraz, J	

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No
PCT/DE 00/01677

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
P, X	DE 199 08 171 A (NAT FOOD RES ;BIO ORIENTED TECHNOLOGY RESEAR (JP)) 7 October 1999 (1999-10-07) cited in the application the whole document	1-11
A	DE 195 40 292 C (BAYER AG ;KARLSRUHE FORSCHZENT (DE)) 30 January 1997 (1997-01-30) the whole document	1-4

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/DE 00/01677

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 9730783 A	28-08-1997	JP 2975943 B	10-11-1999
		JP 9225291 A	02-09-1997
		AU 7639696 A	10-09-1997
		EP 0963787 A	15-12-1999
DE 19545257 A	19-06-1997	AU 712351 B	04-11-1999
		AU 7495596 A	19-06-1997
		CA 2238352 A	05-06-1997
		CN 1213963 A	14-04-1999
		WO 9719676 A	05-06-1997
		EP 0862418 A	09-09-1998
		HU 9903334 A	28-03-2000
		JP 2000501084 T	02-02-2000
		NO 982364 A	25-05-1998
		NZ 321592 A	28-10-1999
DE 19908171 A	07-10-1999	JP 11276802 A	12-10-1999
		FR 2776535 A	01-10-1999
DE 19540292 C	30-01-1997	AT 193223 T	15-06-2000
		CN 1200682 A	02-12-1998
		DE 59605321 D	29-06-2000
		WO 9716239 A	09-05-1997
		EP 0857080 A	12-08-1998
		ES 2146009 T	16-07-2000
		JP 10512197 T	24-11-1998
		US 6082891 A	04-07-2000

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

ationales Aktenzeichen
PCT/DE 00/01677

A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES		
IPK 7	B01J3/02	A61K9/50 A61K9/51 A61K9/16 B01F5/06
Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK		
B. RECHERCHIERTE GEBIETE		
Recherchierte Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikations-symbole)		
IPK 7 B01J A61K B01F		
Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen		
Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)		
EPO-Internal, WPI Data		
C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN		
Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	WO 97 30783 A (JAPAN REPRESENTED BY DIRECTOR ; NAKAJIMA MITSUTOSHI (JP); KIKUCHI Y) 28. August 1997 (1997-08-28)	1-7, 9, 10, 27
P, X	-& EP 0 963 787 A (JAPAN REPRESENTED BY DIRECTOR GENERAL OF NATIONAL FOOD RESEARCH INSTIT) 15. Dezember 1999 (1999-12-15) in der Anmeldung erwähnt Spalte 2, Zeile 7 - Zeile 34 Spalte 3, Zeile 48 - Spalte 4, Zeile 56; Abbildungen 3-9; Beispiele 1, 2	1-7, 9, 10, 27
X	DE 195 45 257 A (SCHERING AG) 19. Juni 1997 (1997-06-19)	27
A	Seite 3, Zeile 32 - Seite 4, Zeile 40	16-26
	--- -/-	
<input checked="" type="checkbox"/> Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen <input checked="" type="checkbox"/> Siehe Anhang Patentfamilie		
<p>* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :</p> <p>"A" Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist</p> <p>"E" älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist</p> <p>"L" Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)</p> <p>"O" Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht</p> <p>"P" Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist</p> <p>"T" Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist</p> <p>"X" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung, die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfindungsfähiger Fähigkeit beruhend betrachtet werden</p> <p>"Y" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung, die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfindungsfähiger Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist</p> <p>"Z" Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist</p>		
Datum des Abschlusses der internationalen Recherche		Absenddatum des internationalen Recherchenberichts
6. November 2000		13/11/2000
Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentaan 2 NL - 2200 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl, Fax: (+31-70) 340-3016		Befüllmöglicher Beauftragter Cubas Alcaraz, J

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

In: nationales Aktenzeichen

PCT/DE 00/01677

C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
P, X	DE 199 08 171 A (NAT FOOD RES ;BIO ORIENTED TECHNOLOGY RESEAR (JP)) 7. Oktober 1999 (1999-10-07) in der Anmeldung erwähnt das ganze Dokument -----	1-11
A	DE 195 40 292 C (BAYER AG ;KARLSRUHE FORSCHZENT (DE)) 30. Januar 1997 (1997-01-30) das ganze Dokument -----	1-4

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichungen, die zur selben Patentfamilie gehören

Ir. ationales Akterzeichen

PCT/DE 00/01677

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument	Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung
WO 9730783 A	28-08-1997	JP 2975943 B	10-11-1999
		JP 9225291 A	02-09-1997
		AU 7639696 A	10-09-1997
		EP 0963787 A	15-12-1999
DE 19545257 A	19-06-1997	AU 712351 B	04-11-1999
		AU 7495596 A	19-06-1997
		CA 2238352 A	05-06-1997
		CN 1213963 A	14-04-1999
		WO 9719676 A	05-06-1997
		EP 0862418 A	09-09-1998
		HU 9903334 A	28-03-2000
		JP 2000501084 T	02-02-2000
		NO 982364 A	25-05-1998
		NZ 321592 A	28-10-1999
DE 19908171 A	07-10-1999	JP 11276802 A	12-10-1999
		FR 2776535 A	01-10-1999
DE 19540292 C	30-01-1997	AT 193223 T	15-06-2000
		CN 1200682 A	02-12-1998
		DE 59605321 D	29-06-2000
		WO 9716239 A	09-05-1997
		EP 0857080 A	12-08-1998
		ES 2146009 T	16-07-2000
		JP 10512197 T	24-11-1998
		US 6082891 A	04-07-2000